

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平4-244029

(43) 公開日 平成4年(1992)9月1日

(51) Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 33/38	ADA	8317-4C		
33/06		8317-4C		
33/30	ADB	8317-4C		
47/02	B	7329-4C		

審査請求 未請求 請求項の数5(全 8 頁)

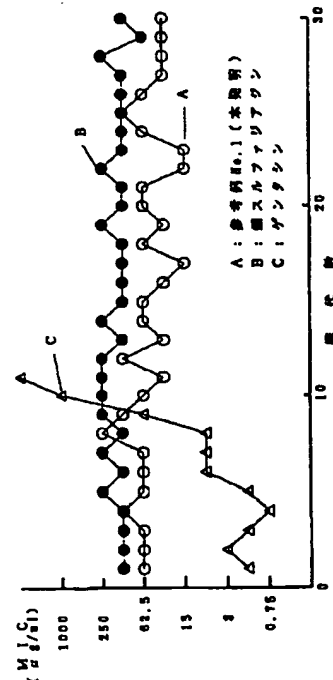
(21) 出願番号	特願平3-27876	(71) 出願人	591033618 株式会社タカミツ 愛知県名古屋市区北上飯田東町4丁目68番地 地の1
(22) 出願日	平成3年(1991)1月29日	(71) 出願人	000131452 株式会社シナネンニューセラミツク 東京都港区海岸1丁目4番22号
		(72) 発明者	宮里 和宏 埼玉県本庄市本庄2丁目5番12号
		(72) 発明者	山本 達雄 愛知県稲沢市奥田町山ヶ田5091番7号
		(72) 発明者	栗原 靖夫 愛知県名古屋市区瑞穂区豊岡通3丁目35番地
		(74) 代理人	弁理士 塩澤 寿夫

(54) 【発明の名称】 抗菌外用剤

(57) 【要約】

【目的】 皮膚刺激性が極めて低く、耐性獲得性がなく抗菌持続性に優れた抗菌外用剤を提供する。

【構成】 有効成分として、銀イオン、亜鉛イオン等の抗菌性金属を保持したゼオライト等のアルミノケイ酸塩を含んで成る抗菌外用剤。この抗菌外用剤は、代表的には、水中油エマルジョンタイプのクリームである。



1

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 有効成分として抗菌性金属イオンを保持したアルミノケイ酸塩を含んで成る抗菌外用剤。

【請求項2】 水中油エマルジョン型のクリームである請求項1記載の抗菌外用剤。

【請求項3】 抗菌性金属イオンを保持したアルミノケイ酸塩を0.1～20%含有する請求項1記載の抗菌外用剤。

【請求項4】 抗菌性金属イオンを保持したアルミノケイ酸塩を1～10%含有する請求項1記載の抗菌外用剤。

【請求項5】 抗菌性金属イオンが、銀イオン及び亜鉛イオンであり、銀イオンの含有量が1～30%であり、亜鉛イオンの含有量が1～15%である請求項1記載の抗菌外用剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は損傷、熱傷、凍傷等の外傷やある種の疾患より生じる潰瘍に対して局所適用するに適した抗菌外用剤に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】 損傷、熱傷、凍傷等の外傷やある種の疾患より生じる潰瘍の治療過程において各種の微生物の感染は、創傷治癒に重大な影響を与える。すなわち創傷面での浸出液が増大して創面の拡大を生じたり、細菌毒素による壊死や化膿を引き起こす。またこれらの症状が長く続き、慢性潰瘍となった場合には、褥瘡、下腿潰瘍、阻血性潰瘍、神経性潰瘍等の症状があらわれる。特に、褥瘡は衰弱した患者が長期間就床した場合に背面、下肢等の骨突出部に生じる難治の潰瘍で、圧迫壊死の一種である。仙骨部に最も多く、その他大転子部、腸骨部、踵骨部、肩甲部などに発生する。

【0003】 褥瘡は発赤に始まり、硬結、壊死、潰瘍化と進むものであるが、高度となれば壊死は皮膚に限らず、筋膜、筋層をも冒し、さらに骨・関節にまで及ぶ。脊髄損傷や意識障害のある患者などで、局所の圧迫、摩擦の他、皮膚の不清潔、尿尿による刺激、あるいは栄養低下、皮下脂肪の萎縮などが発現の要因となる。周囲組織の反応は極めて軽微であって治療傾向が少ないが、創面からの蛋白質の漏出や感染のため全身的条件が一層悪化することが多い。従って、一旦これが発生すると敗血症を引き起こしたり、以後のリハビリテーション及び社会復帰に大きな障害となる。

【0004】 従来、このような潰瘍に対しては、抗生物質、サルファ剤、ステロイド、ヨード等の殺菌消毒剤、トリプシン等の蛋白分解酵素等が用いられている（例えば特開昭61-186312号）。しかし、いずれも一過性の外傷、熱傷に対するものであり、慢性的潰瘍の長期間の使用は耐性獲得菌が発生して抗菌活性が低下する等の問題があった。また銀を含むサルファ剤を有効成分

2

とする抗菌外用剤が提案されている（特開昭53-44615号、特開昭63-51865号）。これは銀の抗菌力を用いた有用な薬剤であるが、サルファ剤成分の吸収による副作用の問題があり、満足いく抗菌外用剤は見い出されていない。

## 【0005】

【発明が解決しようとする課題】 損傷、熱傷、凍傷等の外傷やある種の疾患より生じる潰瘍における緑膿菌、ブドウ球菌、エンテロバクター属、カンジタ属等各種の微生物感染を防止し、創傷治癒を促進させる抗菌外用剤としては、①皮膚刺激性の極めて低く、②耐性獲得性がなく抗菌持続性の優れたものが要求されるが、まだ十分に満足いくものは見い出されていない。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】 本発明者等は、上記課題に鑑みて鋭意研究した結果、抗菌性金属イオンを保持したアルミノケイ酸塩を含んで成る抗菌外用剤が損傷、熱傷、凍傷等の外傷やある種の疾患より生じる潰瘍や慢性的潰瘍に対して治療効果が高く、さらに皮膚刺激性等人体に対する安全性も極めて高いことを見出し、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明は皮膚刺激性等人体に対する安全性が極めて高く、さらに持続効果の優れた抗菌外用剤を提供することである。

【0007】 以下本発明について説明する。本発明においてアルミノケイ酸塩としては一般にゼオライトと呼ばれる結晶性アルミノケイ酸塩や無定形アルミノケイ酸塩を挙げることができる。ここで「ゼオライト」としては、天然ゼオライト及び合成ゼオライトのいずれも用いることができる。ゼオライトは、一般に三次元骨格構造を有するアルミノケイ酸塩であり、一般式として  $M_n \cdot 0 \cdot Al_2O_3 \cdot YSiO_2 \cdot ZH_2O$  で表示される。ここでMはイオン交換可能なイオンの金属イオンである。nは（金属）イオンの原子価である。X及びYはそれぞれの金属酸化物、シリカ係数、Zは結晶水の数を表示している。ゼオライトの具体例としては、例えばA型ゼオライト、X型ゼオライト、Y型ゼオライト、T型ゼオライト、高シリカゼオライト、ソーダライト、モルデナイト、アナルサイム、クリノプチロライト、チャバサイト、エリオナイト等を挙げることができる。ただしこれらに限定されるものではない。

【0008】 本発明においては、無定形アルミノケイ酸塩の含水物もアルミノケイ酸塩に包含される。無定形アルミノケイ酸塩（以下AASという）は、一般に組成式  $xM_2O \cdot Al_2O_3 \cdot ySiO_2 \cdot zH_2O$  で表示され、ここでMは一般にナトリウムやカリウムのアルカリ金属元素である。またx、y、zはそれぞれ金属酸化物、シリカ、結晶水のモル比率を示している。AASはゼオライトと称されている結晶性アルミノケイ酸塩と異なり、X線回折分析でも回折パターンが現れない非晶質の物質であり、その合成工程にて数10オングストロームの極く微細なゼオ

3

ライト結晶が生成し、その表面に $\text{SiO}_2$ 、 $\text{Al}_2\text{O}_3$ 、 $\text{M}_2\text{O}$ などが複雑に組合された非晶質物質が付着した構造と考えられている。AASの製造は一般にはアルミニウム塩溶液、ケイ素化合物溶液及びアルカリ金属塩溶液を所定の濃度で60℃以下の低温度域で反応させ、結晶化が進行する前に水洗して製造される。このような方法で製造されたAASは、ゼオライトとほぼ同様の水吸着性能とイオン交換性能を有する。製造法としては例えば特開昭53-30500号、特開昭61-174111号などに記載された方法がある。

【0009】尚、本発明に用いるアルミノケイ酸塩の粒子径には特に制限はないが、分散性良く皮膚外用剤を調製する観点からは、粒子径は比較的小さいことが好ましい。粉体の粒子径は、例えば0.04-20 $\mu\text{m}$ 、好ましくは0.5-5 $\mu\text{m}$ の範囲にあることが適当である。

【0010】本発明で用いるアルミノケイ酸塩は、上記アルミノケイ酸塩中のイオン交換可能なイオン、例えばナトリウムイオン、カルシウムイオン、カリウムイオン、マグネシウムイオン、鉄イオン等の一部又は全部を抗菌性金属イオンでイオン交換して調製される。

【0011】尚、本明細書において、%とは110℃乾燥基準の重量%をいう。

【0012】以下本発明で用いる抗菌性金属イオン保持ゼオライト（以下抗菌性ゼオライトという）の製造方法について説明する。例えば本発明で用いる抗菌性ゼオライトは、予め調製した銀イオン、銅イオン、亜鉛イオン又は錫イオン等の抗菌性金属イオンを含有する水溶液にゼオライトを接触させて、ゼオライト中のイオン交換可能なイオンと上記イオンとを置換させる。接触は、10-70℃、好ましくは40-60℃で3-24時間、好ましくは10-24時間バッチ式又は連続式（例えばカラム法）によって行うことができる。尚上記水溶液のpHは3-10、好ましくは5-7に調整することが適当である。該調整により、銀の酸化物等のゼオライト表面又は細孔内への析出を防止できるので好ましい。又、水溶液中の各イオンは、通常いずれも塩として供給される。例えば銀イオンは、硝酸銀、硫酸塩、過塩素酸銀、酢酸銀、ジアミン銀硝酸塩、ジアンミン銀硫酸塩等、銅イオンは、硝酸塩（II）、硫酸銅、過塩素酸銅、酢酸銅、テトラシアノ銅酸カリウム等、亜鉛イオンは硝酸亜鉛（I）40、硫酸亜鉛、過塩素酸亜鉛、チオシアン酸亜鉛、酢酸亜鉛等、錫イオンは、硫酸錫、硝酸錫等を用いることができる。

【0013】ゼオライト中の銀イオン等の含有量は前記水溶液中の各イオン（塩）濃度を調節することによって、適宜制御することができる。例えば抗菌性ゼオライトが銀イオン及び亜鉛イオンを含有する場合、前記水溶液中の銀イオン濃度を0.2M/リットル-3.7M/リットル、亜鉛イオン濃度を0.01M/リットル-2.0M/リットルとすることによって、適宜、銀イオン含有量1

4

～30%、亜鉛イオン含有量1～15%の抗菌性ゼオライトを得ることができる。

【0014】本発明においては、2種以上の金属イオンを含む混合水溶液を用いる以外に各イオンを単独で含有する水溶液を用い、各水溶液とゼオライトとを逐次接触させることによって、2種以上のイオン交換することもできる。各水溶液中の各イオンの濃度は、前記混合水溶液中の各イオン濃度に準じて定めることができる。

【0015】またイオン交換の際に抗菌性金属イオンを安定化させる目的でアンモニウムイオンをイオン交換水溶液に加えて反応させることもできる。

【0016】イオン交換が終了したゼオライトは、充分に水洗した後、乾燥する。乾燥は、常圧で105℃-115℃、又は減圧（1-30torr）下70-90℃で行うことが好ましい。

【0017】本発明の抗菌性外用剤に配合する抗菌性金属イオン保持AASの製造方法は上記抗菌性ゼオライトの方法に準じて調製することができる。

【0018】本発明の抗菌外用剤に配合する抗菌性金属イオン保持アルミノケイ酸塩は、銀及び亜鉛を含むことが皮膚収斂性が高く、その結果創傷治癒が早いために特に好ましい。含有量は、銀を1-30%、亜鉛を1-15%、好ましくは銀を2-10%、亜鉛を6-13%であることが、抗菌効果を長期間持続し、創傷治癒がより促進する観点より望ましい。

【0019】本発明の抗菌外用剤は有効成分の抗菌性金属イオン保持アルミノケイ酸塩を通常は種々の希釈剤と混合して懸濁液状、軟膏状、クリーム状、散布剤状、ガーゼ塗布状、パップ剤状、噴霧剤状、テープ剤等にして治療形態に応じて種々の形で用いることができる。

【0020】製剤方法は、例えば懸濁液状の形にして用いる場合には、アルコール類、プロピレングリコールなど公知の抗菌外用薬で使用されている液状物で抗菌性金属イオン保持アルミノケイ酸塩を希釈して用いることができる。

【0021】また軟膏状にして用いる場合には流動パラフィン、白色ワセリン、セレシン、スクワラン、グリセリン、プラスチベース、シリコン、植物油、豚脂など公知の油脂性基剤で希釈して用いることができる。

【0022】またクリーム（乳剤）状にして用いる場合は、水中油エマルジョンタイプと油中水エマルジョンタイプがある。クリームは、上記油脂性基剤に界面活性剤を加え均一に分散後、抗菌金属保持アルミノケイ酸塩を分散した水やマクロゴール類、ソルベースなど水溶性基剤を徐々に加えて希釈して得ることができる。水中油エマルジョンタイプと油中水エマルジョンタイプは使用する界面活性剤の親水基-疎水基バランス値（HLB値）によって決る。一般にHLB値が8以上の界面活性剤では水中油エマルジョンタイプのクリームとなり、8未満の界面活性剤では油中水エマルジョンタイプのクリーム

5

となる。

【0023】本発明の抗菌外用剤に使用できる界面活性剤としては、HLB値が8以上のものとしてトリエタノールアミノオレエート、オレイン酸ナトリウム、オレイン酸カリウム等の陰イオン性界面活性剤、N-セチル-N-エチルモルホリニウムエトサルフェート等の陽イオン性界面活性剤、グリセリンモノステアレート、トリオクタン酸グリセリン、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート、ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート、ポリオキシエチレンソルビタンセチルエーテル、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート等の非イオン性界面活性剤を挙げることができる。HLB値が8未満のものとしてはオレイン酸、ソルビタントリオレエート、ソルビタンセスキオレエート、ソクビタンモノオレエート等を挙げることができる。

【0024】本発明の抗菌外用剤は、上記の形態のうち抗菌外用剤中の抗菌性金属イオン保持アルミノケイ酸塩の分散が容易であり、吸収性が高く、かつ創面での接着性がよいという観点から、水中油エマルジョンタイプのクリームであることが好ましい。

【0025】本発明の抗菌外用剤中に占める抗菌性金属イオン保持アルミノケイ酸塩の含有割合としては通常0.1~20%、好ましくは1~10%に調製するのが有効な薬効を得るという観点より望ましい。

【0026】本発明の抗菌外用剤には上記の必須成分に加えて薬剤学的な補助剤、例えば、粘性調整剤、分散剤、湿潤剤、皮膚軟化剤、安定剤、顔料、香料、pH緩衝剤等を含むこともできる。さらに各種形状の外用剤を調製するための製剤用キャリアーを配合してもよい。

【0027】本発明の抗菌外用剤は、例えば1日1回、滅菌手袋などを用いて、創面を覆うに必要かつ十分な厚さ(約2~3mm)に直接塗布することが適当である。又は、ガーゼ等に同様の厚さにのばし、貼付し、包帯を行うこともできる。なお、第2日目以後の塗布に際しては、前日に塗布した本剤を清拭又は温水浴等で洗い落したのち、新たに本剤を塗布することが適当である。

【0028】

【発明の効果】本発明の抗菌外用剤は微生物が原因であ

6

る皮膚障害には治癒効果がある。例えばにきび、脂漏、慢性湿疹、座瘡、疥癬、白癬を始め軽度の炎症等にも効果がある。

【0029】本発明の抗菌外用剤は損傷、熱傷、凍傷等の外傷やある種の疾患より生じる潰瘍、または慢性的潰瘍に対して治療効果が高く、さらに皮膚刺激性等人体に対する安全性も極めて高い。

【0030】

【実施例】次に本発明の実施の態様を実施例により説明するが、本発明は実施例に限定されるものではない。

【0031】参考例(抗菌性金属イオン保持アルミノケイ酸塩の調製)

アルミノケイ酸塩は市販のA-型ゼオライト( $\text{Na}_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2.0\text{SiO}_2 \cdot \text{XH}_2\text{O}$ ; 平均粒径 $1.1\mu\text{m}$ )、Y-型ゼオライト( $\text{Na}_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 4.0\text{SiO}_2 \cdot \text{XH}_2\text{O}$ ; 平均粒径 $0.7\mu\text{m}$ )、無定形アルミノケイ酸塩(特開昭61-174111号の方法で調製; $0.3\mu\text{m}$ )の3種類を使用した。イオン交換の為に各イオンを提供するための塩として $\text{AgNO}_3$ 、 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ 及び $\text{NH}_4\text{NO}_3$ の3種類を使用した。表1に各サンプル調製時に使用したアルミノケイ酸塩の種類と混合水溶液に含まれる塩の種類と濃度を示した。No.1~No.6の6種類の抗菌性金属イオン保持アルミノケイ酸塩のサンプルを調製した。

【0032】各サンプルとも、 $110^\circ\text{C}$ で加熱乾燥したアルミノケイ酸塩粉末1kg分取し、1リットルの水に懸濁させ、これに0.05Nの硝酸水溶液を100ml/30分の滴下速度で滴下し、所定のpH値(5~7)に調整した。次いで該スラリーにイオン交換の為に所定濃度の抗菌性金属塩の混合水溶液3リットルを加えた。この反応は室温から $60^\circ\text{C}$ にて10~24時間攪拌し平衡状態に到達させた。

【0033】イオン交換終了後アルミノケイ酸塩相をろ過し室温の水又は温水でアルミノケイ酸塩相中の過剰の交換陽イオンがなくなる迄水洗した。次にサンプルを $110^\circ\text{C}$ で加熱乾燥し、6種類のサンプルを得た。

【0034】

【表1】

サンプル No.	アルミノ ケイ酸塩 種類	アルミノケイ酸塩中の 含有量			イオン交換			収量 (g)	イオン 交換 時間	粒子径 ( $\mu\text{m}$ )
		NH <sub>4</sub>	Ag	Zn	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	AgNO <sub>3</sub>	Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>			
1	A型 ゼライト	1.8	2.7	15.1	1.1	0.08	2.5	930	15	1.1
2	"		17.4	12.8		1.2	3.0	970	15	1.1
3	"		3.5	8.6		0.15	2.0	960	48	1.1
4	Y型 ゼライト	1.2	4.2		1.0	0.1		950	48	0.7
5	AAS	1.8	2.6		1.0	0.07		950	25	0.3
6	"		5.9	13.4		0.15	4.0	950	25	0.3

## 【0035】実施例1（軟膏剤の調製）

表2の処方に従って抗菌性金属イオン保持アルミノケイ酸塩を含有した軟膏剤を調製した（実施例1-1～1-8）。比較例として抗菌性金属イオン保持アルミノケイ酸塩を含まない軟膏基剤だけのもの（比較例1）及び酸\*

\*化亜鉛を軟膏基剤に配合したもの（比較例2）も同様に調製した。

【0036】

【表2】

No.	実施例 1-1	実施例 1-2	実施例 1-3	実施例 1-4	実施例 1-5	実施例 1-6	実施例 1-7	実施例 1-8	比較例 1	比較例 2
抗菌アルミノ ケイ酸塩No.	1	1	1	1	2	4	5	6	-	-
抗菌アルミノ ケイ酸塩 (g)	5	7	0.5	12	5	5	0.1	20	-	-
精製ラノリン (g)	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
サラシミツロウ (g)	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
白色ワセリン (g)	79	77	84	72	79	79	84	64	84	64
酸化亜鉛 (g)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20

## 【0037】実施例2（クリーム剤の調製）

表3の処方に従って抗菌性金属イオン保持アルミノケイ酸塩を含有したクリーム剤を調製した（実施例2-1～2-8）。比較例として抗菌性金属イオン保持アルミノケイ酸塩を含まないもの（比較例3）、銀-サルファ剤

の銀スルファジアジンを配合したもの（比較例4）及び抗生物質のゲンタマイシンを配合したもの（比較例5）も同様に調製した。

【0038】

【表3】

(単位: 重量部)

No.	実施例 2-1	実施例 2-2	実施例 2-3	実施例 2-4	実施例 2-5	実施例 2-6	実施例 2-7	実施例 2-8	比較例 3	比較例 4	比較例 5
抗菌剤A/ イオン交換樹脂	1	1	1	1	3	3	5	8	-	-	-
抗菌剤B/ イオン交換樹脂	5	5	0.5	5	6	6	0.2	20	-	-	-
流動パラフィン	5	5	5	-	-	5	5	5	5	5	5
ラウロイルサリシレート ナトリウム	10	10	10	-	-	10	10	10	10	10	10
モノステアリン酸 70%脂肪酸	14	14	14	-	-	14	14	14	14	14	14
4-オクチルフェニル 7-オクチルフェニル モノステアレート	2	2	2	-	-	2	2	2	2	2	2
シリコーン	-	-	-	6	6	-	-	-	-	-	-
シリコーン	-	-	-	3	3	-	-	-	-	-	-
ワセリン	-	-	-	85	85	-	-	-	-	-	-
7-オクタノール	-	-	-	5	5	-	-	-	-	-	-
精製水	64	67	69	46	45	63	69	49	69	67	68
銀スルファジ ン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-
クエン酸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
10-40 117	水中油	水中油	水中油	油中水	油中水	水中油	水中油	水中油	水中油	水中油	水中油

## 【0039】試験例1 (抗菌活性試験)

参考例で得た抗菌性金属イオン保持アルミノケイ酸塩粉末を用いて各種菌類に対する抗菌活性を以下の方法により調べた。

## 検定方法

細菌類はハートインフュージョン寒天 (Heart infusion agar)、酵母とカビ類はサブロー寒天 (Sabouraud ag\*)

20\*ar) による寒天平板希釈法によって行った。表4に各種微生物に対する抗菌活性の強さを抗菌性金属イオン保持アルミノケイ酸塩の最小発育阻止濃度 (MIC) で表示する。

## 【0040】

## 【表4】

試験菌株	サンプル No.					
	1	2	3	4	5	6
<i>Escherichia coli</i> IFO 3301	63	63	63	125	125	125
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IIDP 1	63	63	63	63	63	63
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6539P	125	125	125	125	125	125
<i>Streptococcus faecalis</i> RATCC 8043	125	125	125	125	125	125
<i>Aspergillus niger</i> IFO 4407	500	500	250	250	500	500
<i>Aureobasidium pullulans</i> IFO 6353	500	500	250	500	500	500
<i>Cheatomium globosum</i> ATCC 6205	500	500	500	500	500	500
<i>Glucocladium virens</i> IFO 6355	500	500	500	500	500	500
<i>Penicillium funiculosum</i> IFO 6345	500	500	500	500	500	500
<i>Candida albicans</i> IFO 1594	250	250	250	250	250	125
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IFO 1950	250	250	250	125	250	250

単位:  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 

## 【0041】試験例2 (耐性獲得試験)

緑膿菌をミューラー・ヒントン・ブロス (Muller hinton broth) 培地に於て37℃、18時間培養したもの (8.6 X 10<sup>7</sup> 個/ml) を接種菌液とした。参考例で得た抗菌性金属イオン保持アルミノケイ酸塩及び銀スルファジン、ゲンタマイシンを各種濃度に調整した培地に接種

菌液1白金耳接種し、37℃、24時間静置培養し、明らかに混濁の認められた最大濃度の菌液を同様に於て次の各種濃度を含んだブイヨンに1白金耳接種し、30代継代培養を繰り返し各代の最小発育阻止濃度を測定した。結果を図1に示す。

## 【0042】試験例3 (抗菌外用剤の抗菌試験)

実施例で調製した抗菌外用剤を3×3cm<sup>2</sup>のろ紙に約1mmの厚さで均一に塗付した。これを各菌種用平板培地上に各菌液0.1mlをロランジ棒で延した上に密着させ、37℃で24時間培養した。コントロールとして上記抗菌外用剤を置かないものも試験した。培養後、ろ紙を除き、培地より1cm<sup>2</sup>採取して、10mlの滅菌生理食塩水に入れ、攪拌し、一定割合で希釈して各菌数を測定した。結果を表5に示す。

【0043】

【表5】

サンプルNo.	緑膿菌	大腸菌群	一般細菌
実施例 1-1	0	0	0
1-2	0	0	0
1-3	0	0	4×10 <sup>3</sup>
1-4	0	0	0
1-5	0	0	0
1-6	0	0	0
1-7	0	0	3×10 <sup>3</sup>
1-8	0	0	0
2-1	0	0	0
2-2	0	0	0
2-3	0	0	1×10 <sup>3</sup>
2-4	8×10 <sup>3</sup>	0	4×10 <sup>3</sup>
2-5	2×10 <sup>3</sup>	0	8×10 <sup>3</sup>
2-6	0	0	0
2-7	1×10 <sup>3</sup>	0	3×10 <sup>3</sup>
2-8	0	0	0
比較例 1	5×10 <sup>3</sup>	4×10 <sup>3</sup>	3×10 <sup>3</sup>
2	8×10 <sup>3</sup>	1×10 <sup>3</sup>	7×10 <sup>3</sup>
3	7×10 <sup>3</sup>	7×10 <sup>3</sup>	6×10 <sup>3</sup>
4	3×10 <sup>3</sup>	0	7×10 <sup>3</sup>
5	0	0	0
コントロール	6×10 <sup>3</sup>	1×10 <sup>3</sup>	2×10 <sup>3</sup>

20

\*

サンプルNo.	痂皮脱落日数(日)	治癒日数(日)
実施例 1-1	14.5	22.1
1-2	14.2	22.6
1-5	14.0	22.4
2-1	13.1	21.0
2-5	14.2	23.1
2-6	13.5	20.5
比較例 1	21.8	29.6
2	19.8	27.8
3	21.6	29.4
4	17.4	26.8
5	17.4	24.5
コントロール	22.5	29.8

\*【0044】試験例4(熱傷モデルによる動物試験)

ラットの背部に20mm径の円形状のII度の熱傷を形成し、これに緑膿菌を1×10<sup>3</sup>個接種し、これを被って菌を发育させ、熱傷感染創を形成させた。この創に実施例で調製した抗菌性金属イオン保持アルミノケイ酸塩含有製剤及び酸化亜鉛、銀スルファジアジンの製剤をそれぞれ0.5g投与した。コントロールとしてガーゼで創面を被っただけの試験も同様に行った。治癒効果の評価は、治癒過程における痂皮(血液、組織液により形成される一時的皮膚様のもの)の脱落までの所要日数及び完全に治癒するまでの所要日数を6検体の平均日数で求めた。結果を表6に示す。

【0045】

【表6】

【0046】試験例5(ウサギ皮膚刺激試験)

【0047】ウサギ50検体について試験を実施した。ウサギ脊部正中線付近を適用前日に電気バリカンで剪毛し、2.5×2.5cmの広さの適用部位6カ所を設定した。適用部位6カ所の内、3ヶ所は健康皮膚とし、残り3ヶ所は角質層剥離皮膚とした。角質層剥離皮膚は、注射針

を用いて適用開始直前に真皮に傷をつけたり出血しない程度に、井桁状に傷をつけて作成した。貼付パッチを背部皮膚に貼付後移動しないように粘着テープ(エラスチコン(登録商標)、ジョンソン・アンド・ジョンソン社製)に固定した。適用時間は24時間とし、適用終了後は粘着テープを取り除き、水を含ませた脱脂綿にて被験



物質を拭き取り除去した。

【0048】実施例1-1、1-2、1-5、2-1、2-5、2-6及び比較例4、5で得られた0.5gの抗菌外用剤を上記皮膚に塗布し、各検体中1ヶ所でも紅斑の発生した検体数で評価した。結果を表7に示す。

【0049】

【表7】

サンプルNo.	赤斑発生検体数
実施例1-1	0/50
" 1-2	0/50
" 1-5	0/50
" 2-1	0/50
" 2-5	0/50
" 2-6	0/50
比較例 4	14/50
" 5	5/50

【0050】試験例6（急性毒性試験）

4～6週齢のラットを室温23℃、湿度55%の飼育室

内で2匹ずつ収容した。経口投与は約16時間絶食した後、胃ゾンデを用いて行った。経皮投与は電気バリカンを用いて背部中央の約4×5cmの範囲を投与前日に剪毛し、所定量をガーゼに載せ局方注射用蒸留水で湿潤にして、ガーゼごと剪毛部位に貼付した。貼付部位はさらにアルミ箔で覆いエラストックテープで固定した。約24時間後、水で残存被験物質を除去した。対照として、経口投与の場合は局方注射用蒸留水投与群、経皮投与の場合は局方注射用蒸留水をガーゼに含ませて貼付した群をそれぞれ設けた。結果を表8に示す。

【0051】

【表8】

サンプルNo.	経口毒性LD <sub>50</sub> (mg/kg)	経皮毒性LD <sub>50</sub> (mg/kg)
参考例1	>5000	>2000
" 4	>5000	>2000
" 5	>5000	>2000

【図面の簡単な説明】

20 【図1】シュードモナス アエルギノサ (*Pseudomonas aeruginosa*) 耐性獲得試験結果を示す。

【図1】

